

大豆低丰度蛋白提取物对小鼠免疫功能及抗氧化能力的影响

刘明美^{1,2} 齐斌³ 占今舜¹ 陈银岳¹ 赵国琦^{1*}

(1. 扬州大学 动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009;

2. 江苏联合职业技术学院 淮安生物工程分院, 江苏 淮安 223200;

3. 常熟理工学院 生物与食品工程学院, 江苏 苏州 215500)

摘要 为研究大豆低丰度蛋白提取物对小鼠免疫功能及抗氧化能力的影响, 选用 21 日龄断奶 ICR 雄性仔鼠 180 只, 随机分为 5 组, 每组 36 只, 试验期 28 d, 每天灌胃大豆低丰度蛋白提取物 200 μ L (以提取物中蛋白含量计, 分别为 0、0.5、1.0、2.0、4.0 mg)。结果表明: 1) 试验第 7 天时, 处理组小鼠的白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞数目均高于对照, 且 D_{4.0 mg} 组极显著高于对照 ($P < 0.01$)。2) 试验第 7 和 28 天时, D_{4.0 mg} 组小鼠的脾脏指数均高于其他试验组; 第 7 天的处理组小鼠脾脏 *IL-2*、*TNF- α* 基因的相对表达量均高于对照。3) 第 7 天的 D_{4.0 mg} 组小鼠血清 T-AOC 活力低于其他试验组, 第 28 天的处理组均高于对照; 第 28 天的 D_{4.0 mg} 组小鼠肝脏 *SOD* 和 *GPX* 基因相对表达量均低于其他试验组。研究发现灌胃大豆低丰度蛋白提取物导致试验初期的小鼠发生了过敏反应, 尤以 D_{4.0 mg} 组小鼠最明显; 试验后期, 小鼠的过敏反应得到缓解甚至消失, 抗氧化能力得到一定提高。

关键词 大豆低丰度蛋白; 小鼠; 免疫功能; 抗氧化能力

中图分类号 S816.4

文章编号 1007-4333(2018)02-0057-07

文献标志码 A

Effects of low-abundant soybean protein extracts on the immune function and antioxidant capacity of mice

LIU Mingmei^{1,2}, QI Bin³, ZHAN Jinshun¹, CHEN Yinyue¹, ZHAO Guoqi^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. Huai'an Bio-Engineering Branch of Jiangsu Union Technical Institute, Huai'an 223200, China;

3. College of Biological and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Suzhou 215500, China)

Abstract The aim of this study was to investigate the effects of low-abundant soybean protein (LAP) extracts on immune function and antioxidant capacity in mice. A total of 180 weaned mice aged 21 d were chosen and randomly divided into 5 groups with 36 mice in each group. The trial took 28 days, 200 μ L of LAP extracts with different protein concentration (0, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg protein respectively) were given by gavage administration. The results showed: 1) At 7 d, the number of leukocyte, lymphocyte and neutrophils of blood in all treatment groups were higher than in the control. Those in group D_{4.0 mg} were significantly higher than in the control ($P < 0.01$); 2) The spleen index in group D_{4.0 mg} was higher than other experimental groups at 7 d and 28 d; and the relative transcript levels of *IL-2* and *TNF- α* gene in spleen in all treatment groups were higher than those in the control at 7 d; 3) The T-AOC of serum in group D_{4.0 mg} was lower than in other experimental groups at 7 d. The T-AOC of serum in all treatment groups was higher than in the control and the relative transcript levels of *SOD* and *GPX* genes in mice liver of group D_{4.0 mg} were lower than those in other experimental groups at 28 d. In conclusion, the gavage administration of LAP extracts to mice resulted in the allergic reaction of mice at initial test stage and the group D_{4.0 mg} was most significant, and the allergic reaction was relieved or disappeared at late test stage and the antioxidant ability of mice was increased.

Keywords low-abundant soybean protein; mice; immune function; antioxidant ability

收稿日期: 2017-02-16

基金项目: 国家“863”计划项目(2013AA102203); 国家自然科学基金项目(31572430)

第一作者: 刘明美, 博士, 副教授, 主要从事动物营养与饲料科学研究, E-mail: liummzhou@163.com

通讯作者: 赵国琦, 教授, 博士生导师, 主要从事分子营养研究, E-mail: gqzhao@yzu.edu.cn

作为动物饲料主要植物蛋白源的大豆蛋白是分子量不等的蛋白质混合物,这决定了其组分不同对动物免疫功能和抗氧化能力的影响必然存在差异。大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白约占大豆贮藏蛋白的70%~80%。研究发现大豆球蛋白可致18日龄断奶仔猪的肠道肥大细胞数量和组胺释放量提高^[1]。大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白日粮降低了埃及胡子鲶鱼、鲤鱼的红细胞数目及血红蛋白含量^[2]、增加了虹鳟鱼中性粒细胞和单核细胞活性^[3]、提高了小鼠脾细胞上清液IL-4、IL-5和IFN- γ 水平^[4]。饲喂豆粕日粮的大西洋比目鱼免疫基因表达发生了微妙变化^[5]。仔猪血清的大豆抗原特异性抗体滴度升高^[6-7]。小鼠T-AOC和抗氧化酶(SOD、GSH-PX、CAT)活性显著下降^[8]。低丰度蛋白在大豆蛋白中含量较低,且大部分无法通过传统方法提取^[9],受高丰度蛋白在其检测时的屏蔽,大豆低丰度蛋白提取和鉴定成为大豆蛋白质组学的难题。因此,目前比较缺乏大豆低丰度蛋白的动物生理功能方面的研究。本研究拟以大豆低温脱脂豆粕为材料,采用超声辅助异丙醇法制备大豆低丰度蛋白(无大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白)提取物^[10],通过灌胃小鼠试验考察提取物对断奶小鼠免疫功能及抗氧化能力的影响,以期为大豆蛋白对动物的生理效应研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选择体重相近(20.51 ± 0.36 g)、健康状况良好、21日龄断奶雄性ICR小鼠180只(扬州大学比较医学中心)。动物房温度 23 ± 2 °C,相对湿度60%~65%,光照周期12 h。自由采食、饮水,每两天换1次垫料。

大豆低丰度蛋白提取物(实验室自制)^[10,11],含有 β -淀粉酶、磷酸酯-D、油质蛋白、胰蛋白酶抑制剂、未知蛋白等多种低丰度蛋白,不含高丰度蛋白(大豆球蛋白 β -伴大豆球蛋白)和大豆异黄酮,异丙醇和丙酮残留量(质量比)仅为0.02%和0.04%。

1.2 试验设计

大豆低丰度蛋白提取物溶于超纯水,制成蛋白浓度为0、2.5、5.0、10.0和20.0 mg/mL的溶液,每天每只小鼠灌胃不同蛋白浓度的大豆低丰度蛋白提取物溶液200 μ L(0、0.5、1.0、2.0、4.0 mg,以蛋白

量计)。试验小鼠随机分为5组,分别为对照、D_{0.5 mg}、D_{1.0 mg}、D_{2.0 mg}和D_{4.0 mg}组,每组3个重复,每重复12只。

饲养期35 d,包括适应期7 d和试验期28 d,小鼠基础日粮为AIN93G小鼠纯合日粮(江苏美迪森生物医药有限公司)。

1.3 测定指标及方法

试验进行到第7、28天时,小鼠禁食不禁水15 h,每重复随机取3只小鼠。摘取眼球采血2份,一份放入EDTA抗凝管用于血细胞检测;另一份室温放置2 h,4 °C静置2~3 h,4 000 r/min离心15 min,收集上层血清,用于血清生化指标的测定。

采血后,小鼠颈椎脱臼处死,采集肝脏、脾脏、胸腺等器官,放入-80 °C冰箱保存,用于白细胞介素-2(IL-2)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物(GPX)和过氧化氢酶(CAT)等相关基因表达的测定。

1.3.1 器官指数

器官指数采用下式计算:器官指数=器官质量 $\times 1 000$ /空腹体重

1.3.2 血液指标

采用BC-2800 Vet全自动细胞分析仪计数小鼠血液白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞;利用酶联免疫试剂盒(上海心语生物科技有限公司)测定血清白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-10(IL-10)免疫球蛋白G(IgG)、肿瘤坏死因子(TNF- α)含量和总抗氧化能力(T-AOC)水平。

按照RNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)中的说明书操作,One Drop仪器(五义科技有限公司,南京)测定RNA的浓度和纯度。cDNA合成操作方法参照Roche反转录试剂盒中说明书进行,反应体系为20 μ L,反应条件为:25 °C、10 min,55 °C、30 min。所得cDNA在-20 °C保存,待测。

1.3.3 引物设计

PCR引物由金唯智生物技术公司合成,引物序列及参数见表1。

1.3.4 Real Time-PCR 条件

根据Roche试剂盒说明书于冰上配制反应液,在罗氏Light Cycler[®] 96 PCR仪上进行检测。PCR反应条件为:第1步预变性(95 °C,30 s),第2步40次循环(95 °C,5 s;60 °C,20 s),第3步融解曲线分析(65 °C,15 s)。

表 1 β -actin、IL-2、TNF- α 、SOD、CAT、GPX 等基因引物参数Table 1 Parameters of β -actin, IL-2, TNF- α , SOD, CAT and GPX primers

基因 Gene	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	产物长度/bp Length of product
β-肌动蛋白 β -actin	F-CCTCTATGCCAACACAGTGC	206
	R-CCTGCTTGCTGATCCACATC	
白细胞介素-2 IL-2	F-GCGGCATGTTCTGGATTTGAC	204
	R-GGGCTTGTTGAGATGATGCTTT	
肿瘤坏死因子 TNF- α	F-GGGTACGACATCCTGTTGCTC	246
	R-CGGCTGATCCGGTTGAGGAG	
超氧化物歧化酶 SOD	F-AACCATCCACTTCGAGCAGA	203
	R-GGTCTCCAACATGCCTCTCT	
谷胱甘肽过氧化物 GPXI	F-GGTTTCCCGTGCAATCAGTT	225
	R-GTACTTGGGGTTCGGTCATGA	
过氧化氢酶 CAT	F-CGCAATCCTACACCATGTGC	219
	R-TCCGCTCTCTGTCAAAGTGT	

1.4 数据统计及分析

试验数据经 Microsoft Excel 2007 初步整理后,采用 SPSS 17.0 单因子(One-way ANOVA, LSD)进行方差分析, $P < 0.05$ 表示差异显著性, $P < 0.01$ 表示差异极显著。基因相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算。

2 结果与分析

2.1 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠免疫功能的影响

2.1.1 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠血液免疫细胞的影响

大豆低丰度蛋白提取物对小鼠血液免疫细胞的影响见表 2。第 7 天时,处理组小鼠血液的白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞数目均高于对照,且 $D_{4.0\text{ mg}}$ 组的极显著高于其对照 ($P < 0.01$)。第 28 天时,各试验组间白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞数目无显著差异 ($P > 0.05$), $D_{4.0\text{ mg}}$ 组高于对照。

2.1.2 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠免疫器官指数的影响

由表 3 可以看出,试验第 7 天时,各处理组小鼠的胸腺指数和脾脏指数与对照相比差异均不显著 ($P > 0.05$),但 $D_{4.0\text{ mg}}$ 组的均高于其对照。试验第 28 天时,各试验组小鼠的胸腺指数和脾脏指数均无显著差异 ($P > 0.05$),但 $D_{4.0\text{ mg}}$ 组小鼠的脾脏指数高

于对照。

2.1.3 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠脾脏免疫因子基因表达和血清细胞因子影响

试验第 7 天时,各试验组间小鼠脾脏 IL-2、TNF- α 基因相对表达量无显著差异 ($P > 0.05$),但处理组均高于对照。第 28 天时,处理组小鼠 IL-2 均高于对照,且 $D_{4.0\text{ mg}}$ 组的极显著高于对照组、 $D_{2.0\text{ mg}}$ 组 ($P < 0.01$) 和显著高于 $D_{0.5\text{ mg}}$ 、 $D_{1.0\text{ mg}}$ 组 ($P < 0.05$);而 $D_{2.0\text{ mg}}$ 组小鼠 IL-2、TNF- α 基因相对表达量均低于其他处理组(表 4)。

由表 5 可以得知,试验第 7、28 天时, $D_{2.0\text{ mg}}$ 和 $D_{4.0\text{ mg}}$ 处理组小鼠血清的 IL-2 含量与对照相比无显著差异 ($P > 0.05$)。处理组小鼠血清的 IL-10、IgG 和 TNF- α 含量与其对照均无显著差异 ($P > 0.05$)。结果说明,大豆低丰度蛋白提取物对小鼠血清细胞因子含量的影响不大。

2.2 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠抗氧化能力的影响

2.2.1 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠血清 T-AOC 的影响

试验第 7、28 天时,处理组小鼠的血清总抗氧化能力(T-AOC)随着大豆低丰度蛋白提取物灌胃量的增加呈现先升高后降低的趋势。试验第 7 天时的各试验组间无显著差异,但第 28 天时的 $D_{1.0\text{ mg}}$ 和

表2 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠血液免疫细胞的影响

Table 2 Effects of LAP extracts on the immunocyte in mice blood

10⁹/L

项目 Item	试验期/d Test period	对照 CK	D _{0.5} mg	D _{1.0} mg	D _{2.0} mg	D _{4.0} mg
白细胞	7	2.57±0.85 Bc	4.67±1.00 ABbc	5.53±1.94 ABab	5.00±1.08 ABab	7.13±0.55 Aa
	28	5.30±1.78	4.30±1.71	4.20±1.66	6.17±1.65	6.30±1.92
淋巴细胞	7	1.80±0.56 Bc	3.47±1.00 ABb	3.80±1.04 ABab	3.90±0.87 ABab	5.10±0.89 Aa
	28	2.90±0.61	2.57±0.85	3.07±1.36	4.20±0.96	3.83±1.14
中性粒细胞	7	0.70±0.26 Bc	1.07±0.06 ABbc	1.53±0.76 ABab	0.97±0.23 ABbc	1.83±0.38 Aa
	28	2.20±1.18	1.57±0.76	1.03±0.25	1.80±0.66	2.30±0.85

注:不同大写字母表示差异极显著(P<0.01),不同小写字母表示差异显著(P<0.05),下表同。

Notes: Different capitals indicates significant difference at P<0.01 level; Lowercase letter indicate significant difference at P<0.05 level. The same bellow.

表3 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠免疫器官指数影响

Table 3 Effects of LAP extracts on the index of immune organ in mice

项目 Item	试验期/d Test period	对照 CK	D _{0.5} mg	D _{1.0} mg	D _{2.0} mg	D _{4.0} mg
胸腺	7	2.16±0.50	2.43±0.49	1.84±0.22	1.50±0.42	2.22±0.52
Thymus	28	1.18±0.22	1.18±0.31	1.24±0.58	0.64±0.22	0.73±0.28
脾脏	7	3.72±0.46 ABab	4.18±0.69 Aa	3.90±0.37 ABab	3.46±0.18 Bb	4.29±0.23 ABb
Spleen	28	2.35±0.06	2.36±0.30	2.35±0.63	2.27±0.27	2.74±0.40

表4 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠脾脏免疫因子基因相对表达量的影响

Table 4 Effects of the LAP extracts on the relative expression of genes in mice spleen

项目 Item	试验期/d Test period	对照 CK	D _{0.5} mg	D _{1.0} mg	D _{2.0} mg	D _{4.0} mg
白介素-2	7	1.00±0.00	2.83±2.06	2.43±2.59	3.51±3.17	4.01±1.59
IL-2	28	1.00±0.00 Bb	2.91±1.03 ABb	2.76±0.20 ABb	1.51±0.58 Bb	6.38±3.61 Aa
肿瘤坏死因子	7	1.00±0.00	2.64±2.22	1.38±0.78	2.88±2.67	4.19±5.54
TNF- α	28	1.00±0.00 B	5.30±3.47 A	2.66±0.30 AB	0.96±0.64 B	3.46±0.83 AB

D_{2.0 mg} 组显著高于其他组 ($P < 0.05$)，整个试验期内，D_{1.0 mg}、D_{2.0 mg} 组 T-AOC 含量较高(表 6)。结果

显示，大豆低丰度蛋白提取物在对试验后期小鼠的总抗氧化能力具有一定的提高作用。

表 5 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠血清细胞因子的影响

Table 5 Effects of LAP extracts on the cell factors of serum in mice

项目 Item	组别 Group	试验期/d Test period	
		7	28
白细胞介素-2/(ng/L) IL-2	对照	851.77±49.72 b	866.19±74.49 ab
	D _{0.5 mg}	851.29±37.56 b	971.96±411.50 ab
	D _{1.0 mg}	1102.77±201.56 a	632.20±105.07 b
	D _{2.0 mg}	945.52±121.52 ab	1263.23±200.82 a
	D _{4.0 mg}	802.27±133.91 b	781.29±17.32 ab
白细胞介素-10/(ng/L) IL-10	对照	985.14±174.73 ab	854.33±349.71
	D _{0.5 mg}	1159.55±151.18 a	897.93±352.49
	D _{1.0 mg}	928.17±76.61 ab	622.22±96.87
	D _{2.0 mg}	911.29±83.77 ab	726.69±174.24
	D _{4.0 mg}	864.18±125.20 b	829.34±218.71
免疫球蛋白 G/(ng/mL) Ig-G	对照	652.97±124.27	924.22±184.46
	D _{0.5 mg}	720.78±270.42	660.11±277.53
	D _{1.0 mg}	619.06±248.36	706.78±284.59
	D _{2.0 mg}	848.67±200.91	939.68±174.16
	D _{4.0 mg}	674.11±128.54	680.88±274.89
肿瘤坏死因子/(ng/L) TNF-α	对照	520.04±98.54	444.27±146.89
	D _{0.5 mg}	602.32±235.49	689.92±318.32
	D _{1.0 mg}	681.04±343.27	727.52±144.41
	D _{2.0 mg}	586.93±278.93	808.61±348.95
	D _{4.0 mg}	730.72±130.88	558.66±31.31

表 6 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠血清 T-AOC 的影响

Table 6 Effects of LAP extracts on the T-AOC of serum in mice U/mL

组别 Group	试验期/d Test period	
	7	28
对照	11.28±2.60	7.81±0.36 b
D _{0.5 mg}	10.61±3.97	8.57±1.66 b
D _{1.0 mg}	12.04±0.27	12.87±1.67 a
D _{2.0 mg}	10.14±4.05	11.77±2.20 a
D _{4.0 mg}	9.61±1.99	9.01±2.63 b

2.2.2 大豆低丰度蛋白对小鼠肝脏 SOD、CAT、GPX 基因表达的影响

由表 7 可以看出，试验第 7、28 天时，各试验组小鼠肝脏的 SOD、CAT 基因相对表达量无显著差异 ($P > 0.05$)。第 28 天时，D_{4.0 mg} 组小鼠的 SOD 和 GPX 基因表达量均低于其他各试验组。

3 讨论

动物血液中白细胞数量的变化可以反映机体细胞免疫水平的高低，进而反映机体的免疫状态^[12]。研究发现，饲喂含抗原蛋白的日粮升高了白细胞数

表7 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠肝脏 SOD、CAT、GPX 基因相对表达量的影响

Table 7 Effects of LAP extracts on the relative expression of SOD, CAT and GPX genes in mice liver

项目 Item	试验期/d Test period	组别 Group				
		对照	D _{0.5 mg}	D _{1.0 mg}	D _{2.0 mg}	D _{4.0 mg}
超氧化物歧化酶	7	1.00±0.00	1.40±0.60	0.88±0.26	0.88±0.18	1.22±0.35
SOD	28	1.00±0.00	0.99±0.20	1.36±0.41	1.00±0.20	0.98±0.38
过氧化氢酶	7	1.00±0.00	1.02±0.15	1.14±0.32	0.86±0.13	0.82±0.16
CAT	28	1.00±0.00	1.33±0.14	1.22±0.31	1.82±0.52	1.91±1.53
谷胱甘肽过氧化物酶	7	1.00±0.00	1.53±0.48	0.99±0.63	1.29±0.04	1.33±0.52
GPX	28	1.00±0.00 ab	0.91±0.047 b	1.30±0.36 a	1.09±0.27 ab	0.82±0.12 b

目^[2],饲喂大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白的虹鳟鱼白细胞数量分别增加了51.2%和43.3%,说明虹鳟鱼对此发生了系统的特异性和非特异性免疫应答^[3]。本试验探讨了实验室自制的的大豆低丰度蛋白提取物对小鼠免疫细胞的影响,结果显示:试验第7天时,各处理组小鼠的白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞数目均高于其对照,D_{4.0 mg}组的极显著高于其对照($P < 0.05$),究其原因可能是试验初期大豆低丰度蛋白提取物导致小鼠发生了过敏反应,D_{4.0 mg}组小鼠的过敏反应最为严重。

胸腺、脾脏均参与机体的免疫,是动物重要的免疫器官,而高丰度大豆蛋白(大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白)引起的过敏反应主要表现在脾脏细胞的增殖和细胞因子的差异表达等方面^[4]。本研究发现试验第7、28天时,D_{4.0 mg}组小鼠的脾脏指数均高于其对照,这可能是大豆低丰度蛋白导致的过敏反应引起了小鼠脾脏细胞的增值所致。

细胞因子是由活化了的淋巴细胞产生的具有免疫调节作用的免疫活性物质,具有介导机体整体免疫调节的功能,IL-2、IFN- γ 、TNF等细胞因子主要介导与细胞免疫有关的免疫应答,参与迟发型超敏反应;IL-4、IL-5、IL-10和IL-13等细胞因子主要参与体液免疫,与过敏性炎症有关^[13]。已有研究表明大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白显著提高体外培养小鼠的肠上皮细胞炎性细胞因子(IL-2、IL-6、IL-8)分泌,促使其发生过敏反应^[14-15]。本研究在试验第7天时,各试验组小鼠脾脏IL-2、TNF- α 基因的相对表达量无显著差异,但处理组均高于对照;第28天时的D_{2.0 mg}组小鼠脾脏IL-2、TNF- α 基因的相对表达量均低于其他处理组。此结果进一步证实了灌胃提取物可能导致小鼠发生了过敏反应,随着试验时

间的延长,此过敏反应得到缓解甚至消失,其中D_{2.0 mg}组小鼠症状最轻,这与其生长性能最佳相对应^[11]。

T-AOC是反映机体抗氧化系统功能的综合性指标,包括酶促与非酶促两个体系,它们之间相互协同,共同发挥抗氧化作用^[16]。SOD是重要的抗氧化酶之一,能够歧化超氧阴离子形成H₂O₂,消除超氧阴离子的毒性,保护细胞免受损伤^[17]。GPX能催化GSH清除机体中的氢过氧化物ROOH,得到H₂O和醇类化合物。加热或MDA氧化大豆蛋白的日粮导致小鼠T-AOC和抗氧化酶(SOD、GSH-PX、CAT)活性显著下降,导致氧化应激^[8]。灌胃大豆低丰度蛋白提取物第7天时,D_{4.0 mg}组小鼠血清的T-AOC低于其他各试验组;第28天时,处理组T-AOC水平均高于对照,D_{4.0 mg}组SOD和GPX均低于其他各试验组,此结果说明提取物对小鼠的抗氧化能力表现为从初期的降低到后期的提高作用,且对D_{4.0 mg}组小鼠的降低效果明显。

4 结论

试验第7天,大豆低丰度蛋白提取物通过增加小鼠血液的白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞数目,提高脾脏指数及脾脏IL-2、TNF- α 基因相对表达量,引发了小鼠的过敏反应,尤以D_{4.0 mg}组小鼠最为显著;试验第28天时,各处理组小鼠的过敏反应得到缓解甚至消失。大豆低丰度蛋白提取物对小鼠抗氧化能力的影响表现为先降低后增强的现象,其中对D_{4.0 mg}的降低效果最为明显。

除两种高丰度蛋白(大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白)外,含几种低丰度蛋白的提取物也能引发动物的过敏反应。因此,利用蛋白组学技术进一步分离

提取物中的低丰度蛋白,将是研究提取物中某种低丰度蛋白动物生理功能的关键,也可能是发现新大豆过敏原的有效途径。

参考文献 References

- [1] Sun P, Li D F, Li Z, Dong B, Wang F L. Effects of glycinin on IgE-mediated increase of mast cell numbers and histamine release in the small intestine [J]. *Journal of Nutritional Chemistry*, 2008, 19(9): 627-633
- [2] 孙玲. 大豆抗原蛋白对不同食性鱼类消化酶活性及血液指标的影响[D]. 长春:吉林农业大学, 2008
Sun L. Effects of soybean antigen on the activities of digestive enzyme and blood index of different fishes [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2008 (in Chinese)
- [3] Rumsey G L, Siwicki A K, Anderson D P, Bower P R. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth and protein utilization in rainbow trout [J]. *Vet Immunology Immunopathology*, 1994, (41): 323-339
- [4] 刘欣. 大豆球蛋白 glycinin 和 β -conglycinin 引发 Balb/c 小鼠过敏反应及其机理的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2008
Liu X. Research on mechanism of allergic reactions caused by soybean glycinin and β -conglycinin in Balb/c mice [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008 (in Chinese)
- [5] Murray H M, Lall S P, Rajaselvam R, Boutilier L A, Blanchard B, Flight R M, Colombo S, Mohindra V, Douglas S E. A nutrigenomic analysis of intestinal response to partial soybean meal replacement in diets for juvenile Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L [J]. *Aquaculture*, 2010, 298(3): 282-293
- [6] Li Z T, Li D F, Qiao S Y, Zhu X P, Huang C H. Anti-nutritional effects of a moderate dose of soybean agglutinin in the rat [J]. *Archives of Animal Nutrition*, 2003a, 57(4): 267-277
- [7] Li Z T, Li D F, Qiao S Y. Effects of soybean agglutinin on nitrogen metabolism and on characteristics of intestinal tissues and pancreas in rats [J]. *Archives Animal Nutrition*, 2003b, 57(5): 369-380
- [8] 吴秋苹, 王姣, 乐国伟, 水银娟, 殷凯健, 施用辉. 加热或丙二醛氧化大豆蛋白对小鼠体内自由基水平及抗氧化能力的影响 [J]. *营养学报*, 2011, 33(1): 14-18
Wu Q P, Wang J, Le G W, Shui Y J, Yin K J, Shi Y H. Effects of soybean protein modified by heat or malondialdehyde on the level of free radicals and antioxidant capability in mice [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2011, 33(1): 14-18 (in Chinese)
- [9] Marmagne A, Rouet M A, Ferro M, Rolland N, Alcon C, Joyard J, Garin J, Barbier B H, Ephritikine G. Identification of new intrinsic proteins in *Arabidopsis* plasma membrane proteome [J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2004, 3(7): 675-691
- [10] Liu M M, Zhao G Q, Qi B, Zhan J S. Effects of ultrasonic treatment on removal of abundant proteins and enrichment of low-abundance proteins in defatted soybean meal by isopropanol [J]. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2016, 30(3): 521-528
- [11] 刘明美. 大豆低丰度蛋白的分离、鉴定及其提取物对小鼠的生理效应研究[D]. 扬州:扬州大学, 2016
Liu M M. The isolation, identification of less-abundant soybean proteins and the physiological effects of its extracts on mice [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2016 (in Chinese)
- [12] 高峰. 中药免疫增强剂作用机理的研究进展 [J]. *中兽医学杂志*, 2007, (2): 41-43
Gao F. Research progress of immune enhancement mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Chinese Journal of Traditional Veterinary Science*, 2007, (2): 41-43 (in Chinese)
- [13] 张玲华, 郭勇, 田兴山, 邝哲师, 周凤珍. 白细胞介素-6 的分子生物学研究进展及其在畜禽业中的应用前景 [J]. *中国畜牧兽医*, 2005, 32(2): 31-33
Zhang L H, Guo Y, Tian X S, Kuang Z S, Zhou F Z. IL-6 research progress of molecular biology and its application prospect in livestock exposed [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2005, 32(2): 31-33 (in Chinese)
- [14] 徐君, 王之盛, 周安国. 大豆抗原蛋白对小鼠肠上皮细胞吸收功能的影响 [J]. *饲料研究*, 2010, (8): 32-35
Xu J, Wang Z S, Zhou A G. Effects of soybean antigen protein on the absorb function of intestinal epithelial cells in mice [J]. *Feed Research*, 2010, (8): 32-35 (in Chinese)
- [15] 徐君, 王之盛, 周安国. 大豆抗原蛋白对小鼠肠上皮细胞的影响 [J]. *饲料研究*, 2010(6): 26-29
Xu J, Wang Z S, Zhou A G. Effects of soybean antigen protein on on intestinal epithelial cells [J]. *Feed Research*, 2010(6): 26-29 (in Chinese)
- [16] 刘赞, 翁恩琪, 张颖, 洪蓉. 极低频电磁场及与铅联合作用对小鼠抗氧化系统的影响 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2001, 20(4): 263-265
Liu Y, Weng E, Zhang Y, Hong R. Effects of extremely low frequency electromagnetic field and its combination with lead on the antioxidant system in mouse [J]. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases*, 2002, 20(4): 263-265 (in Chinese)
- [17] Holdom M D, Lechenne B, Hay R J, Hamilton A J, Monod M. Production and characterization of recombinant *Aspergillum fumigates* Cu, Zn superoxide dismutase and its recognition by immune human sera [J]. *Journal of Clinical Microbiological*, 2000, 38(2): 558-562